Aus der Abteilung für Kiefer- und Plastische
Gesichtschirurgie im Klinikum Steglitz des Fachbereichs
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Freien Universität Berlin
(Leiter: Prof. Dr. Dr. R. Stellmach)

"INTRAVENÖSE VERSUS INTRATUMORALE CHEMOTHERAPIE IN STAMM 2 MEERSCHWEINEN MIT LINIE 10-TUMOREN"

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Siegel
aus Berlin

1985

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549619_0037

Aus der Abteilung für Kiefer- und Plastische
Gesichtschirurgie im Klinikum Steglitz des Fachbreichs
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Freien Universität Berlin
(Leiter: Prof. Dr. Dr. R. Stellmach)

"INTRAVENÖSE VERSUS INTRATUMORALE CHEMOTHERAPIE IN STAMM 2 MEERSCHWEINEN MIT LINIE 10-TUMOREN"

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Siegel
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. Dr. Jürgen Bier

Korreferent: Prof. Dr. H. Gerhartz

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 10.04.1985

Meiner Mutter und meinem Bruder

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	7
2.	MATERIEL UND METHODEN	10
2.1.	Tiere	10
2.2.	Tumoren	10
2.3.	Zytostatika	10
2.4.	Statistik	11
3.	EXPERIMENTELLES VORGEHEN	12
3.1.	Tumorzellen	12
	3.1.1. Zellvermehrung	12
	3.1.2. Zellagerung	13
3.2.	Intradermale Tumortransplantation	14
3.3.	Zytostatikaapplikation	
	3.3.1. Intratumorale Applikation	
	3.3.2. Intravenöse Applikation	
4.	TUMORTHERAPIE	15
5.	ERGEBNISSE	19
5.1.	Therapieergebnisse	19
5.2.	Tumorgröße	33
5.3.	Lymphknotengröße	36
5.4.	Gewichtsverhalten der Meerschweine vor, während und nach Chemotherapie	39

		Seite
6.	DISKUSSION	44
6.1.	Mehrmalige intratumorale Chemotherapie	45
6.2.	Einmalige intratumorale Chemotherapie	47
6.3.	Einfluß des Tumoralters	48
6.4.	Intravenöse Chemotherapie	50
6.5.	Schlußfolgerungen	52
7.	ZUSAMMENFASSUNG	55
8.	LITERATURVERZEICHNIS	56

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Neben den bereits etablierten Therapieformen maligner Tumoren, chirurgische Behandlung und Radiotherapie, kam die klinische Chemotherapie seit Beginn der 40er Jahre zunehmend zur Anwendung. Diese Entwicklung wurde unter anderem durch die Beobachtung von Dustin (1934) und Lits (1934) herbeigeführt, die ein Alkaloid der Herbstzeitlosen, das Colchecin, als Mitosegift charakterisieren konnten. Die Verwendung chemotherapeutischer Medikamente zur Therapie maligner Erkrankungen wurde durch erste Erfahrungen mit Östrogenen und Androgenen bei der Behandlung von Prostata- (Huggins und Hodges, 1941) und Mamma-Karzinomen (Loeser, 1939) und Remissionen bei kindlicher akuter Leukämie mit Aminopterin (Farber et al., 1948) gefördert. Der dadurch für die klinische Onkologie erreichte Fortschritt wird aber durch zwei entscheidende Nachteile begleitet: 1. Mit einer cytostatischen Therapie werden nur in Ausnahmefällen alle Tumorzellen vernichtet. Meist wird lediglich eine Fraktion - unabhängig von der Gesamttumormasse - in ihrer Zellvermehrung geschädigt, die für humane Tumoren zum großen Teil kleiner als 50 % ist (Skipper et al., 1964). Die verbleibenden entarteten Zellen befinden sich überwiegend in der Ruhephase und sind durch antineoplastische Medikamente kaum zu schädigen (Neumann, 1977). 2. Chemotherapeutische Substanzen wirken nicht selektiv auf Tumorzellen, sondern per se auf jedes mitotische Gewebe, wobei schnell proliferierende Zellen wie z. B. Knochenmarkszellen besonders betroffen sind. Dadurch ist eine therapeutisch wirksame Antitumorbehandlung immer mit einer Schädigung gesunden Gewebes verbunden und die Dosishöhe eines Medikamentes limitiert.

Um diese Nebenwirkungen auf gesundes Gewebe möglichst gering zu halten und trotzdem hohe Wirkstoffkonzentrationen im Tumor zu erreichen, wurden zusätzlich zur systemischen intravenösen Standardverabreichung eine Reihe weiterer Applikationsverfahren für die chemotherapeutische Behandlung erprobt. Es wurde zum Beispiel für Bleomycin über intraarterielle Perfusion (Hun-

tington et al., 1973), intrapleurale Instillation (Paladine et al., 1976) und intratumorale Injektion (Taketa et al., 1971) berichtet.

Die intratumorale Injektion von Zytostatika ist klinisch kein allgemein akzeptiertes Verfahren. Es liegen jedoch eine Reihe von klinischen Berichten mit guten Ergebnissen vor. Es wurde über sehr gute Heilerfolge bei der lokalen Behandlung von Hauttumoren (Pfister, 1971) und Plattenepithelkarzinomen der Vulva und Cervix (Fettig et al., 1971) berichtet. Dabei imponierte neben der guten Ansprechbarkeit der Tumoren die im Vergleich zur systemischen Applikation bedeutende Verringerung der Nebenwirkungen des Medikamentes. Glasowski (1977) konnte über Teilremissionen und klinische Remission bei der intratumoralen Infiltrationstherapie von Plattenepithelkarzonomen des HNO-Bereichs mit Bleomycin berichten.

In einer tierexperimentellen Studie zur Ausscheidung und Organverteilung von ^{57}Co-Bleomycin an tumortragenden Mäusen beobachteten Bier et al. (1979) nach i.t.-Applikation von Bleomycin eine im Vergleich zur systemischen Applikation (i.v.) erhöhte Bleomycinkonzentration im Tumor und im drainierenden Lymphknoten. Zusätzlich zeigte sich in Toxizitätsversuchen bei Gabe gleich hoher Zytostatikadosen eine höhere Überlebensrate lokal behandelter Tiere im Vergleich zu systemisch behandelten Tieren.

Auf Grund dieser Befunde und ähnlicher Ergebnisse anderer Autoren (Takahashi et al., 1973; Tator und Wassenaar, 1977) folgerten Bier et al. (1979, 1980), daß eine reale Basis zur intratumoralen Chemotherapie geeigneter maligner Tumoren mit Zytostatika besteht.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in einem syngenen Meerschweinmodell mit einem chemisch induzierten lymphogen metastasierenden, epithelialen Tumor, Befunde zur intratumoralen Chemotherapie zu erheben. 1. Ist es möglich, Tiere mit einem bei Therapiebeginn bereits metastasierten Tumor durch intratumorale Chemotherapie klinisch zu heilen? 2. Ist es möglich,

Tiere mit den bei intratumoraler Therapie ermittelten optimalen Dosen durch systemische intravenöse Therapie klinisch zu heilen?

Zusätzlich galt es, den Einfluß unterschiedlichen Tumoralters und verschiedener Dosierungsschemata zu untersuchen.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Tiere

Weibliche Stamm 2 Sewall Wright Inzuchtmeerschweine wurden vom Veterinary Resources Branch, Division of Research Services, National Institutes of Health, Bethesda, USA, bezogen. Die Tiere waren bei Therapiebeginn 3 - 4 Monate alt und wogen 450 - 550 g. Sie wurden in Käfigen zu je 5 Tieren gehalten und erhielten Wasser und Standardfutter ad libitum.

2.2. Tumoren

Linie 10 Tumorzellen wurden von Dr. H. RAPP und Dr. B. ZBAR, Laboratory of Immunobiology, National Cancer Institute Bethesda, USA, zur Verfügung gestellt. Diese Tumorzell-Linie war chemisch (Diäthylnitrosamin) in Stamm 2 Meerschweinen induziert worden.

Der Tumor zeigt epitheliale Formationen und wächst sowohl solide als auch in Aszitesform (RAPP et al., 1968). Der Tumor wurde durch Aszitespassage vermehrt und zur Transplantation durch Peritonealwaschung gewonnen.

Linie 10-Tumorzellen metastasierten fast ausschließlich lymphogen. Nur im Spätstadium waren bei einigen Tieren vereinzelt hämatogene Lungenmetastasen nachweisbar.

2.3. Zytostatika

Zur Therapie wurden Bleomycin (BLM; Mack Illertissen, Deutschland), Cisplatinum (DDP; Bristol, Bergisch-Gladbach, Deutschland), Vincristin (VCR; Lilly, Lahn-Giessen, Deutschland), 5-Fluoro-Uracil (5 FU; La Roche, Basel, Schweiz), Actinomycin D (Sharp und Dohme, München, Deutschland), Mitomycin C (Serva, Heidelberg, Deutschland), BCNU (1,3-bis 2-chlorethyl)

1-nitrosurea; National Cancer Institute, Bethesda, USA), Methotrexat (MTX; Lederle, Cyanamid, Wolfratshausen, Deutschland) und Leucoverin (Lederle, Cyanamid, Wolfratshausen, Deutschland) verwendet.

2.4. Statistik

Es wurde das Kriterium "Überlebenszeit" der Versuchstiere mit dem Wilcoxon-Test bei zweiseitiger Fragestellung für unabhängige Stichproben geprüft ($n = 5$). Die Grenze der Irrtumswahrscheinlichkeit wurde bei $2\alpha < 5\ \%$ festgelegt. Unterschiede wurden bei $2\alpha < 5\ \%$ als signifikant bewertet. Alle Versuchsgruppen wurden gegen die entsprechenden Kontrollgruppen getestet.

3. EXPERIMENTELLES VORGEHEN

3.1. Tumorzellen

3.1.1. Zellvermehrung

Der Tumor wurde durch Peritonealpassage vermehrt. Dabei wurden Stamm 2 Meerschweinen 2 x 10^6 vitale Linie 10 Tumorzellen (1 x 10^6/ml) intraperitoneal injiziert.

Die Einstellung der Zellzahl erfolgte mittels der Neubauer'schen Zählkammer. Gleichzeitig wurde durch eine Trypanblau-Färbung die Vitalität der Tumorzellen bestimmt. Blau gefärbte Zellen wurden als abgestorben gewertet.

Nach ca. 12 - 14 Tagen zeigten die Meerschweine eine Vergrößerung ihres Bauchumfanges und, bei Beklopfen des Bauches, typische wellenförmige Asziteszeichen. Außerdem konnte eine auftretende Struppigkeit des Felles als Zeichen fortgeschrittenen Tumorwachstums gedeutet werden. Bei Auftreten dieser Symptome wurden die Meerschweine durch Äthernarkose getötet und die Tumorzellen durch Peritonealpunktion und Peritonealwaschung mit Nährmedium (mit 2,0 g/l $NaHCO_3$, ohne Glutamin) RPMI 1640 ("Gibco", Glasgow, Scotland) gewonnen. Anschließend wurden die Zellen 3 mal mit Medium gewaschen (1000 U/min, 10 min) und nach Vitalfärbung auf 1 x 10^7 lebende Zellen/ml eingestellt.

3.3. Zytostatikaapplikation

3.3.1. Intratumorale Applikation

Der Beginn der intratumoralen Zytostatikaapplikation erfolgte entweder an Tag 7, 14 oder 21 nach Tumorzellimplantation. Die Therapie wurde in Form einer einmaligen Injektion oder durch mehrfache Applikation durchgeführt. Bei Mehrfachinjektion wurde an 5 aufeinander folgenden Tagen therapiert. Es folgten jeweils 2 Tage Therapiepause. Dieses Therapieschema

wurde über 3 Wochen durchgeführt. Das jeweilige Injektionsvolumen betrug 100 µl.

3.3.2. Intravenöse Applikation

Versuche zur intravenösen Zytostatikatherapie wurden ausschließlich an Tag 7 nach Tumortransplantation durchgeführt. Die Injektion erfolgte über einen Katheter, der in die Vena jugularis der Meerschweine implantiert worden war. Das Einsetzen des Katheters erfolgte in Narkose ("Ketanest", Parke-Davies, München; "Rompun", Bayer) unter Freilegung und Unterbindung der Vena jugularis. Die Therapie wurde mit 5 Injektionen/Woche über 3 Wochen und einem Injektionsvolumen von jeweils 100 µl/Injektion durchgeführt. Nach jeder Zytostatikainjektion und mindestens zweimal täglich wurde der Katheter mit einer Heparinlösung (Heparin-Na; 25 000 I.E., Verdünnung 1 : 1; Organon Teknika, Oberschleissheim, Deutschland) gespült.

3.1.2. Zellagerung

Für aktuelle Experimente nicht benötigte Zellen wurden für spätere Aszitespassagen in flüssigem Stickstoff eingefroren. Dazu wurden Tumorzellen mit 10 % Dimethylsulfoxid zur Synthese (C_2H_6OS; DMSO) ("Merck", Darmstadt, Deutschland), 15 % hitzeinaktiviertem (30' bei 56 °C) Foetal Calf Serum (FCS) ("Gibco", Glasgow, Scotland) und 75 % RPMI 1640 Medium auf 1 x 10^7 Zellen/ml eingestellt und in Plastik-Ampullen (Union Carbide Deutschland GmbH, Abteilung Cyrogenics) abgefüllt. Auf Grund der Toxizität von DMSO wurden die Zellen auf Eis gelegt und DMSO erst direkt vor Abfüllen der Zellen unter ständigem Schütteln hinzugegeben.

Nach Hitzversiegelung der Ampullen wurden die Zellen in einem Einfriergerät (Union Carbide BF - 6) in Ringposition E für 27 min und dann in Ringposition A für 38 min eingefroren.

Danach wurden die Zellampullen in einem Stickstoffbehälter (Union Carbide LR 33) bei - 198 °C gelagert.

Zur Wiederverwendung wurden die Tumorzellen im Wasserbad bei 37 °C aufgetaut, 3 mal mit RPMI 1640 gewaschen und nach Vitalfärbung auf 1 x 10^7 lebende Zellen/ml eingestellt. Dieser Prozeß mußte sehr rasch geschehen, um die toxische Wirkung des DMSO möglichst gering zu halten.

3.2. Intradermale Tumortransplantation

Stamm 2 Meerschweine erhielten nach vorhergehende Rasur des Felles und Desinfektion der Haut (Braunoderm, Braun, Melsungen, Deutschland) 1 x 10^6 Linie 10 Zellen (≙ 100 µl) mit einer Tuberculinspritze intradermal in die linke bzw. rechte Flanke injiziert.

4. TUMORTHERAPIE

Die Experimente wurden mit je 5 Tieren/Versuchsgruppe durchgeführt. Linie 10 tumortragende Stamm 2 Meerschweine wurden 7, 14 oder 21 Tage nach Tumorimplantation mit unterschiedlichen Medikamenten intratumoral behandelt. Darüber hinaus wurde ein Experiment mit intravenöser Therapie 7 Tage nach Tumorimplantation durchgeführt. Jedes Experiment wurde mit 2 Kontrollgruppen durchgeführt. Die erste Kontrollgruppe erhielt physiologische Kochsalzlösung intratumoral, bei intravenöser Therapie ebenfalls intravenös, und die zweite Kontrollgruppe blieb unbehandelt.

Zum Zeitpunkt des Therapiebeginns war bereits eine histologisch nachweisbare Metastasierung in den ersten drainierenden Lymphknoten (Ln. axillaris) erfolgt.

Experiment 1: Die Versuchsgruppen I - VII wurden an Tag 7 nach Tumorimplantation mit ansteigender Dosierung wässrigen Bleomycins (0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 mg) intratumoral behandelt. Die Therapie erfolgte als Mehrfachinjektion. Die Versuchsgruppen VIII und IX dienten als Kontrollgruppen. Versuchsgruppe VIII erhielt physiologische Kochsalzlösung intratumoral und Versuchsgruppe IX blieb unbehandelt.

Experiment 2: Die Versuchsgruppen I - V wurden an Tag 7 nach Tumorimplantation mit ansteigender Dosierung (0,02; 0,05; 0,2; 0,5; 1,0 mg) wässrigen Cisplatinums intratumoral therapiert. Die Therapie erfolgte als Mehrfachinjektion. Die Kontrollgruppe VI erhielt physiologische Kochsalzlösung intratumoral und die Kontrollgruppe VII blieb unbehandelt.

Experiment 3: Die Versuchsgruppen I - VI wurden mit ansteigenden Dosierungen (1; 5; 10; 30; 60; 100 µg) wässrigen Vincristins intratumoral behandelt. Die Therapie erfolgte an Tag 7 nach Tumorimplantation und wurde als Mehrfachinjektion durchgeführt. Die Versuchsgruppe VII erhielt physiologische Kochsalzlösung intratumoral und Versuchsgruppe VIII blieb unbehandelt.

Experiment 4: Das vierte Experiment wurde mit unterschiedlichen Zytostatika durchgeführt. Die Therapie erfolgte 7 Tage nach Tumorimplantation und wurde als Mehrfachinjektion durchgeführt. Die Injektionen erfolgten intratumoral. Versuchsgruppe I und II erhielt 5 FU (7,5 mg/10 mg) Injektionen. Die Versuchsgruppen III und IV wurden mit Mitomycin C (50/100 µg/kg) Injektionen therapiert. Die Versuchsgruppen V und VI wurden mit Actinomycin D (5/15 µg) Injektionen behandelt. Die Versuchsgruppen VII und VIII erhielten Injektionen mit BCNU. Die Konzentration betrug für Gruppe VII 0,5 und für Gruppe VIII 1,5 mg/kg/Injektion. Versuchsgruppe X wurde mit Methotrexat 25 mg/kg/Injektion therapiert. Im Anschluß an die MTX-Therapie wurde eine Leucovorin-Rescue-Therapie durchgeführt (Sauer, 1980). 8, 16 und 24 Stunden nach MTX-Gabe erhielten die Tiere jeweils 50 mg Leucovorin subcutan injiziert. Die Versuchsgruppe X erhielt physiologische Kochsalzlösung intratumoral und die Versuchsgruppe XI blieb unbehandelt.

Experiment 5: Das fünfte Experiment wurde in Form einer einmaligen intratumoralen Chemotherapie durchgeführt. Alle Versuchsgruppen wurden an Tag 7 nach Tumorimplantation intratumoral behandelt. Versuchsgruppe I und II erhielt Bleomycininjektionen (5 mg/25 mg/kg). Die Versuchsgruppen III

und IV wurden mit Cisplatinuminjektionen (1/5 mg) therapiert. Die Versuchsgruppen V und VI erhielten Vincristininjektionen (0,2/1,0 mg/kg). Die Versuchsgruppen VII und VIII dienten als Kontrollgruppen und erhielten physiologische Kochsalzlösung intratumoral (VII) bzw. verblieben unbehandelt (VIII).

Experiment 6: In Experiment 6 wurde 14 Tage nach Tumorimplantation intratumoral therapiert. Die Behandlung erfolgte als Mehrfachinjektion. Die Versuchsgruppe I wurde mit einer Bleomycinkonzentration von 3 mg/kg/Injektion therapiert. Die Versuchsgruppe II erhielt Cisplatinuminjektionen (0,5 mg/kg/Injektion). Die Versuchsgruppe III wurde mit Vincristin (60 µg/kg/Injektion) behandelt. Die Versuchsgruppen IV und V dienten als Kontrollgruppen und erhielten physiologische Kochsalzlösung intratumoral (IV) bzw. verblieben unbehandelt (V).

Experiment 7: Im 7. Experiment begann die Therapie 21 Tage nach Tumorimplantation. Die Behandlung erfolgte intratumoral und wurde als Mehrfachinjektion durchgeführt. Die Versuchsgruppe I wurde mit Bleomycin (2,5 mg) therapiert. Die Versuchsgruppe II erhielt Injektionen mit Cisplatinum (0,5 mg). Die Versuchsgruppe III wurde mit Vincristin (60 µg) behandelt. Die Versuchsgruppe IV und V dienten als Kontrollgruppen. Versuchsgruppe IV erhielt physiologische Kochsalzlösung intratumoral und Versuchsgruppe V blieb unbehandelt.

Experiment 8: Experiment 8 wurde als intravenöse Chemotherapie 7 Tage nach Tumorimplantation durchgeführt. Die Behandlung erfolgte als Mehrfachinjektion. Die Versuchsgruppe I wurde mit Bleomycin (2,5 mg/

kg/Injektion) therapiert. Die Versuchsgruppe II erhielt Cisplatinuminjektionen (0,2 mg/kg/Injektion). Die Versuchsgruppe III wurde mit Vincristin (1 µg/kg/Injektion) behandelt. Die Gruppen IV und V dienten als Kontrollgruppen und erhielten physiologische Kochsalzlösung (IV) bzw. verblieben unbehandelt (V).

Zur Verlaufskontrolle wurde wöchentlich über 4 Monate das Tiergewicht gemessen, sowie mittels einer Schublehre die Tumor- und Lymphknotengröße bestimmt. Mit der Bezeichnung - am Medikament verstorben - wurden die Tiere versehen, die signifikant früher verstarben als die Tiere der Kontrollgruppe und klinisch Anzeichen für toxische Wirkungen des Zytostatikums zeigten. Als klinische Kriterien galten überdurchschnittliche Gewichtsabnahme, Struppigkeit des Fells sowie Haarausfall. Kontinuierliche Blutbildkontrollen waren leider aus technischen Gründen nicht möglich. Zusätzlich wurde bei jedem dieser Tiere eine Obduktion vorgenommen, um makroskopisch andere Todesursachen auszuschließen.

Die mittlere Überlebenszeit wurde arithmetisch bestimmt. 120 Tage nach Therapiebeginn klinisch tumorfreie Tiere wurden als geheilt gewertet.

5. ERGEBNISSE

5.1. Therapieergebnisse

Die Therapieergebnisse des 1. Experiments sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Es wurde die Wirkung einer mehrmaligen intratumoralen Bleomycinapplikation (5 Tage/Woche über 3 Wochen) auf 7 Tage alte, intradermal in der Flanke von Stamm 2 Meerschweinen wachsende, Linie 10 Tumoren untersucht.

Für die intratumorale Therapie mit Bleomycin ergab sich eine Dosiswirkungsabhängigkeit. Tiere, die mit einer Bleomycinkonzentration von 0,25; 0,5 und 1,0 mg/kg/Injektion behandelt wurden, starben ausnahmslos an progredientem Tumorwachstum (Gruppe I - III). Mit steigender Bleomycin-Dosis (1,5; 2,0 mg/kg/Injektion) wurde eine zunehmende Zahl (2/5; 4/5) von tumortragenden Tieren geheilt (Gruppe IV, V). Mit einer Bleomycin-Dosis von 2,5 mg/kg/Injektion konnten alle Tiere (5/5) geheilt werden (Gruppe VI). Beim Überschreiten einer kritischen Therapiedosis (3,0 mg/kg/Injektion) konnten 3 von 5 Tieren geheilt werden, während 2 von 5 Tieren an toxischen Nebenwirkungen des Medikaments starben (Gruppe VII).

Alle Kontrolltiere, die physiologische Kochsalzlösung intratumoral erhielten (Gruppe VIII), und alle unbehandelten Tiere (Gruppe IX), starben an progredientem Tumorwachstum.

Für die Therapiegruppen I - VI ergab sich eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit ($2\alpha < 1\ \%$) im Vergleich zu den Kontrollgruppen VIII und IX.

Die Therapieergebnisse des 2. Experiments sind in Tabelle 2 dargestellt.

Im 2. Experiment wurde die Wirksamkeit mehrmaliger (5 Tage/Woche über 3 Wochen) intratumoraler Cisplatinuminjektionen auf 7 Tage alte, intradermal wachsende, Linie 10 Tumoren in Stamm

Tabelle 1:

Intratumorale Chemotherapie Tag 7 alter intradermal wachsender Linie 10-Tumoren in Stamm 2-Meerschweinen.

Gruppe	Medikament	Dosis/kg/Injektion 5 Tage/Woche für 3 Wochen	Zahl tumorfreier Tiere Tag 120/Zahl behandelter Tiere ($1x10^6$ Linie 10-Zellen Tag 0	Mittlere Überlebenszeit in Tagen
I	Bleomycin	0,25 mg	0/5	77[2]
II	Bleomycin	0,5 mg	0/5	84[2]
III	Bleomycin	1,0 mg	0/5	100[2]
IV	Bleomycin	1,5 mg	2/5	120[2]
V	Bleomycin	2,0 mg	4/5	120[2]
VI	Bleomycin	2,5 mg	5/5	120[2]
VII	Bleomycin	3,0 mg	3/5[1]	90
VIII	physiologische Kochsalzlösung	-	0/5	50
IX	-	-	0/5	52

[1] Zwei Tiere am Medikament verstorben

[2] Signifikant ($2\alpha < 1$ %) gegenüber Kontrollgruppe VIII

2 Meerschweinen untersucht.

Bei der Therapie mit Cisplatinum zeigte sich, daß bei steigender Dosierung (0,02; 0,05; 0,2 mg/kg/Injektion) eine zunehmende Zahl (2/5; 3/5; 5/5) tumortragneder Tiere geheilt werden konnte (Gruppe I - III). Im Dosisbereich 0,2 - 1,0 mg konnten mit den untersuchten Konzentrationen (0,2; 0,5; 1,0 mg/kg/Injektion) alle Tiere geheilt werden (Gruppe III - V), während die mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Tiere der Kontrollgruppe VI und die unbehandelten Tiere (Gruppe VII) ausnahmslos an progredientem Tumorwachstum starben.

Die Therapiegruppen I - V zeigten eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit ($2\alpha < 1$ %) im Vergleich zu den Kontrollgruppen VI und VII.

Therapieergebnisse des 3. Experiments sind in Tabelle 3, Seite 23, aufgeführt.

Im 3. Experiment wurde die intratumorale Chemotherapie 7 Tage alter intradermaler Linie 10 Tumoren mit mehrmaligen Vincristin-Injektionen (5 Tage/Woche über 3 Wochen) untersucht.

Bei der Therapie mit Vincristin konnte für alle untersuchten Konzentrationen (1; 5; 10; 30; 60; 100 µg/kg/Injektion) eine annähernd gleiche Zahl von Tieren (3/5; 4/5; 4/5; 4/5; 5/5; 4/5) geheilt werden (Gruppe I - VI). In den Gruppen III (10 µg/kg), IV (30 µg/kg) und VI (100 µg/kg) verstarb je ein Tier entweder aus ungeklärter Ursache oder an toxischen Nebenwirkungen des Vincristins.

Alle Kontrolltiere der Gruppe VII, die physiologische Kochsalzlösung intratumoral erhielten, starben ebenso wie die unbehandelten Tiere (Gruppe VIII) an progredientem Tumorwachstum.

Die Therapiegruppen I, II und V imponierten mit einer signifikanten Verlängerung der Überlebenszeit ($2\alpha < 1$ %) im Ver-

Tabelle 2:

Intratumorale Chemotherapie Tag 7 alter intradermal wachsender Linie 10-Tumoren in Stamm 2-Meerschweinen.

Gruppe	Medikament	Dosis/kg/Injektion 5 Tage/Woche für 3 Wochen	Zahl tumorfreier Tiere Tag 120/Zahl behandelter Tiere ($1x10^6$ Linie 10-Zellen Tag 0	Mittlere Überlebenszeit in Tagen
I	Cisplatinum	0,02 mg	2/5	85[1]
II	Cisplatinum	0,05 mg	3/5	109[1]
III	Cisplatinum	0,2 mg	5/5	120[1]
IV	Cisplatinum	0,5 mg	5/5	120[1]
V	Cisplatinum	1,0 mg	5/5	120[1]
VI	physiologische Kochsalzlösung	-	0/5	51
VII	-	-	0/5	52

[1] Signifikant ($2\alpha < 1$ %) gegenüber Kontrollgruppe VI

Tabelle 3:

Intratumorale Chemotherapie Tag 7 alter intradermal wachsender Linie 10-Tumoren in Stamm 2-Meerschweinen.

Gruppe	Medikament	Dosis/kg/Injektion 5 Tage/Woche für 3 Wochen	Zahl tumorfreier Tiere Tag 120/Zahl behandelter Tiere ($1x10^6$ Linie 10-Zellen Tag 0	Mittlere Überlebenszeit in Tagen
I	Vincristin	1 µg	3/5	106[3]
II	Vincristin	5 µg	4/5	109[3]
III	Vincristin	10 µg	4/5[1]	99
IV	Vincristin	30 µg	4/5[1]	100
V	Vincristin	60 µg	5/5	120[3]
VI	Vincristin	100 µg	4/5[2]	99
VII	physiologische Kochsalzlösung	-	0/5	55
VIII	-	-	0/5	54

[1] Ein Tier an Infektion verstorben

[2] Ein Tier am Medikament verstorben

[3] Signifikant ($2\alpha < 1$ %) gegenüber Kontrollgruppe VIII

gleich zu den Kontrollgruppen VII und VIII.

Die Therapieergebnisse des 4. Experiments sind in Tabelle 4 (Seite 25) dargestellt.

Untersucht wurde eine mehrmalige intratumorale Chemotherapie (5 Tage/Woche über 3 Wochen) 7 Tage alter intradermaler Linie 10 Tumoren mit 5 FU, Mitomycin C, Actinomycin D, BCNU und Methotrexat.

Die Versuchsgruppen I und II wurden mit 5 FU (7,5; 10 mg/kg /Injektion) therapiert. Dabei konnten in Gruppe I (7,5 mg/kg) 2 von 5 und in Gruppe II (10 mg/kg) 1 von 5 Tieren geheilt werden, während jeweils 2 von 5 bzw. 4 von 5 Tieren an den toxischen Nebenwirkungen des Medikaments verstarben.

Die Therapiegruppen III und IV wurden mit Mitomycin C (50; 100 µg/kg/Injektion) behandelt. In Therapiegruppe III (50 µg/kg/Injektion) konnten 2 von 5 Tieren geheilt werden. Ein Tier verstarb an toxischen Nebenwirkungen des Medikaments und 2 Tiere am Tumor. In Therapiegruppe IV konnten 4 von 5 Tieren geheilt werden. Ein Tier starb an progredientem Tumorwachstum.

Für die Mitomycin C behandelten Tiere (Gruppe III, IV) trat eine signifikante ($2\alpha < 1\ \%$) Verlängerung der Überlebenszeit im Vergleich zu der mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrollgruppe X und zu der unbehandelten Kontrollgruppe XI ein

Die Therapiegruppen V und VI wurden mit 5 µg/kg/Injektion bzw. 15 µg/kg/Injektion Actinomycin D behandelt. Dabei konnten in beiden Gruppen jeweils 3 von 5 Tieren geheilt werden. Es wurde eine signifikante Verlängerung ($2\alpha < 1\ \%$) der Überlebenszeit im Vergleich zu den Kontrollgruppen X und XI registriert.

In Gruppe VII und VIII wurde mit BCNU therapiert. Die BCNU-

Tabelle 4:

Intratumorale Chemotherapie Tag 7 alter intradermal wachsender Linie 10-Tumoren in Stamm 2-Meerschweinen.

Gruppe	Medikament	Dosis/kg/Injektion 5 Tage/Woche für 3 Wochen	Zahl tumorfreier Tiere Tag 120/Zahl behandelter Tiere ($1x10^6$ Linie 10-Zellen Tag 0	Mittlere Überlebenszeit in Tagen
I	5 FU	7,5 mg	2/5[1]	73
II	5 FU	10,0 mg	1/5[2]	43
III	Mitomycin C	50,0 µg	2/5[3]	108[5]
IV	Mitomycin D	100,0 µg	4/5	120[5]
V	Actinomycin D	5,0 µg	3/5	103[5]
VI	Actinomycin D	15,0 µg	3/5	111[5]
VII	BCNU	0,5 mg	1/5	83
VIII	BCNU	1,5 mg	2/5[1]	90[5]
IX	Methotrexat	25,0 mg	0/5[4]	31
X	physiologische Kochsalzlösung	-	0/5	54
XI	-	-	0/5	54

[1] Zwei Tiere am Medikament verstorben

[2] Vier Tiere am Medikament verstorben

[3] Ein Tier am Medikament verstorben

[4] Drei Tiere am Medikament verstorben

[5] Signifikant ($2\alpha < 1$ %) gegenüber Kontrollgruppe X

Konzentrationen betrugen in Gruppe VII 0,5 mg/kg und in Gruppe VIII 1,0 mg/kg und führten zu einer Heilung von 1 von 5 bzw. 2 von 5 Tieren. In Gruppe VIII (1,0 mg/kg/Injektion) verstarben 2 von 5 Tieren an den toxischen Nebenwirkungen von BCNU.

Die Versuchsgruppe IX wurde mit Methotrexat (25 mg/kg/Injektion) und systemischem Leucoverin-Rescue (50 mg/kg/Injektion) therapiert. Es konnte kein Tier geheilt werden. 3 von 5 Tieren verstarben an den toxischen Nebenwirkungen des Medikaments und 2 von 5 Tieren an fortschreitendem Tumorwachstum.

Tumortragende Tiere der Kontrollgruppe X verstarben nach intratumoraler Injektion von physiologischer Kochsalzlösung ebenso wie die unbehandelten Tiere der Kontrollgruppe XI an progredientem Tumorwachstum.

Die Therapieergebnisse des 5. Experiments sind in Tabelle 5 (Seite 27) aufgeführt.

Im 5. Experiment untersuchten wir die Wirkung einer einmaligen intratumoralen Zytostatikainjektion auf intradermal in der Flanke von Stamm 2 Meerschweinen wachsender Linie 10 Tumoren. Die Therapie erfolgte 7 Tage nach Tumortransplantation.

Mit 5 mg/kg Bleomycin behandelte Tiere starben alle an progredientem Tumorwachstum (Gruppe I). Bei der Behandlung mit 25 mg/kg Bleomycin konnten 1 von 5 Tieren geheilt werden (Gruppe II). Die Tiere der Gruppe II zeigten eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit im Vergleich zu den Kontrollgruppen VII und VIII. Für die Behandlung mit einer einmaligen Cisplatinum-Dosis von 1 mg/kg ergab sich eine Heilung bei 1 von 5 Tieren (Gruppe III). Bei einer Steigerung der Cisplatinum-Dosis auf 5 mg/kg überlebten 2 von 5 Tieren (Gruppe IV) klinisch tumorfrei. Die Gruppen V und VI wurden mit Vincristin (0,2 mg; 1,0 mg/kg/Injektion) therapiert.

Tabelle 5:

Intratumorale Chemotherapie Tag 7 alter intradermal wachsender Linie 10-Tumoren in Stamm 2-Meerschweinen.

Gruppe	Medikament	Dosis/kg/Injektion 1 x/Tag 7	Zahl tumorfreier Tiere Tag 120/Zahl behandelter Tiere ($1x10^6$ Linie 10-Zellen Tag 0)	Mittlere Überlebenszeit in Tagen
I	Bleomycin	5,0 mg	0/5	88
II	Bleomycin	25,0 mg	1/5	95
III	Cisplatinum	1,0 mg	1/5	95
IV	Cisplatinum	5,0 mg	2/5	88
V	Vincristin	0,2 mg	4/5[1]	99
VI	Vincristin	1,0 mg	0/5[2]	11
VII	physiologische Kochsalzlösung	-	0/5[1]	52
VIII	-	-	0/5	53

[1] Ein Tier am Medikament verstorben

[2] Alle Tiere am Medikament verstorben

Während bei der Behandlung mit 0,2 mg Vincristin 4 von 5 Tieren geheilt werden konnten, starben bei einer Dosis von 1,0 mg (Gruppe VI) alle Tiere an toxischen Nebenwirkungen von Vincristin. Für die Gruppe V ergab sich eine signifikante Verlängerung und für die Gruppe VI eine signifikante Verkürzung der Überlebenszeit ($2\alpha < 1$ %) im Vergleich zu den Kontrollgruppen VII und VIII. Von den Kontrolltieren der Gruppe VII, denen physiologische Kochsalzlösung intratumoral injiziert wurde, und den unbehandelten Tieren der Gruppe VIII überlebte kein Tier klinisch tumorfrei.

Die Ergebnisse des 6. Experiments sind in Tabelle 6 dargestellt.

Im 6. Experiment wurde die Wirkung einer mehrmaligen intratumoralen Chemotherapie (5 Tage/Woche über 3 Wochen) mit Bleomycin, Cisplatinum und Vincristin auf 14 Tage alte, intradermal in Stamm 2 Meerschweinen wachsende Linie 10 Tumoren untersucht.

In der mit Bleomycin (3,0 mg/kg/Injektion) behandelten Therapiegruppe I konnten 4 von 5 Tieren geheilt werden, während 1 von 5 Tieren an toxischen Nebenwirkungen des Bleomycins verstarb.

Die Therapiegruppe II wurde mit 0,5 mg/kg/Injektion Cisplatinum therapiert. Alle 5 behandelten Tiere konnten klinisch geheilt werden. Für die Tiere der Therapiegruppe II konnte eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit ($2\alpha <$ 1 %) im Vergleich zu den Kontrollgruppen IV und V festgestellt werden.

In der III. Therapiegruppe wurde mit Vincristin (60 µg/kg/Injektion) behandelt. Die 5 behandelten Tiere waren nach 120 Tagen klinisch tumorfrei. Die Therapiegruppe III imponierte mit einer signifikanten Verlängerung der Überlebenszeit ($2\alpha < 1$ %) im Vergleich zu den Kontrollgruppen IV und V.

Tabelle 6:

Intratumorale Chemotherapie Tag 14 alter intradermal wachsender Linie 10-Tumoren in Stamm 2-Meerschweinen.

Gruppe	Medikament	Dosis/kg/Injektion 5 Tage/Woche für 3 Wochen	Zahl tumorfreier Tiere Tag 120/Zahl behandelter Tiere ($1x10^6$ Linie 10-Zellen Tag 0	Mittlere Überlebenszeit in Tagen
I	Bleomycin	3,0 mg	4/5[1]	100
II	Cisplatinum	0,5 mg	5/5	120[2]
III	Vincirstin	60,0 µg	5/5	120[2]
IV	physiologische Kochsalzlösung	-	0/5	54
V	-	-	0/5	53

[1] Ein Tier am Medikament verstorben

[2] Signifikant ($2\alpha < 1$ %) gegenüber Kontrollgruppe IV

Tiere, die mit physiologischer Kochsalzlösung i.t. zur Kontrolle injiziert wurden (Gruppe IV), starben ebenso wie unbehandelte Tiere (Gruppe V) an progredientem Tumorwachstum.

Therapieergebnisse des 7. Experiments sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Im 7. Therapieexperiment wurde eine mehrmalige (5 Tage/Woche über 3 Wochen) intratumorale Chemotherapie 21 Tage alter, intradermal in der Flanke von Stamm 2 Meerschweinen wachsender, Linie 10 Tumoren durchgeführt.

In der mit 2,5 mg/kg/Injektion Bleomycin behandelten Therapiegruppe I konnte kein Tier vom Tumor geheilt werden. Auch in der mit Cisplatinum (0,5 mg/kg/Injektion) behandelten II. Therapiegruppe starben 5 von 5 Tieren an fortschreitendem Tumorwachstum. Lediglich mit Vincristin-Therapie (60 µg/kg/Injektion) konnte 1 von 5 Tieren geheilt werden (Gruppe III). Für keine der 3 Therapiegruppen konnte eine signifikante Verlängerung oder Verkürzung der Überlebenszeiten ($2\alpha < 1\,\%$) im Vergleich zu den Kontrollgruppen IV und V festgestellt werden. Alle Tiere der Kontrollgruppe IV, die mit physiologischer Kochsalzlösung intratumoral injiziert wurden, und alle unbehandelten Tiere (Gruppe V), starben an progredientem Tumorwachstum.

Die Therapieergebnisse des 8. Experiments geben aus Tabelle 8 hervor.

Es wurde eine mehrmalige (5 Tage/Woche über 3 Wochen) intravenöse Chemotherapie 7 Tage alter intradermaler, in Stamm 2 Meerschweinen wachsender, Linie 10 Tumoren mit den bei i.t. Therapie verwendeten optimalen Dosierungen von Bleomycin, Cisplatinum und Vincristin durchgeführt. Von 5 tumortragenden Meerschweinen, die über einen Katheter in der v. jugularis intravenös mit 2,5 mg/kg/Injektion Bleomycin therapiert wurden, starben 2 von 5 Tieren an fortschreitendem Tumorwachstum und 3 von 5 Tieren an toxischen Nebenwirkungen von

Tabelle 7:

Intratumorale Chemotherapie Tag 21 alter intradermal wachsender Linie 10-Tumoren in Stamm 2-Meerschweinen.

Gruppe	Medikament	Dosis/kg/Injektion 5 Tage/Woche für 3 Wochen	Zahl tumorfreier Tiere Tag 120/Zahl behandelter Tiere ($1x10^6$ Linie 10-Zellen Tag 0	Mittlere Überlebenszeit in Tagen
I	Bleomycin	2,5 mg	0/5	63
II	Cisplatinum	0,5 mg	0/5	58
III	Vincristin	60,0 µg	1/5	75
IV	physiologische Kochsalzlösung	-	0/5	54
V	-	-	0/5	54

Tabelle 8:

Intravenöse Chemotherapie Tag 7 alter intradermal wachsender Linie 10-Tumoren in Stamm 2-Meerschweinen.

Gruppe	Medikament	Dosis/kg/Injektion 5 Tage/Woche für 3 Wochen	Zahl tumorfreier Tiere Tag 120/Zahl behandelter Tiere ($1x10^6$ Linie 10-Zellen Tag 0	Mittlere Überlebenszeit in Tagen
I	Bleomycin	2,5 mg	0/5[1]	53
II	Cisplatinum	0,2 mg	0/5[2]	24[4]
III	Vincristin	10,0 µg	0/5[3]	18[4]
IV	physiologische Kochsalzlösung	-	0/5	58
V	-	-	0/5	56

[1] Drei Tiere am Medikament verstorben

[2] Zwei Tiere am Medikament verstorben

[3] Fünf Tiere am Medikament verstorben

[4] Signifikant ($2\alpha < 1$ %) gegenüber Kontrollgruppe IV

Bleomycin (Gruppe I). Bei der Therapie mit Cisplatinum (0,2 mg/kg/Injektion) starben 3 von 5 Tieren am Tumor, während 2 von 5 Tieren den toxischen Nebenwirkungen des Medikaments erlagen (Gruppe II). Die mit Vincristin (1 µg/kg/Injektion) therapierten Tiere verstarben alle (5/5) an den toxischen Nebenwirkungen des Medikaments (Gruppe III). Alle mit physiologischer Kochsalzlösung i.v. behandelten Kontrolltiere (Gruppe IV) starben ebenso wie alle unbehandelten Tiere (Gruppe V) an progredientem Tumorwachstum.

Für die mit Cisplatinum und Vincristin i.v. behandelten Versuchsgruppen II und III trat gegenüber den Kontrollgruppen IV und V eine signifikante Verkürzung der Überlebensdauer (2 1 %) auf, während für die mit Bleomycin behandelte Gruppe I kein Unterschied zu den Kontrollgruppen nachweisbar war.

5.2. Tumorgröße

An Tag 0 erhielten alle Meerschweine eine intradermale Injektion von 10^6 Linie 10 Tumorzellen in 100 µl Injektionsvolumen. Bis zum Therapiebeginn an Tag 7 waren die Tumoren auf einen Durchmesser von ca. 7 - 10 mm angewachsen (s. Abb. 1, 2, 3).

Am Beispiel der Zytostatika Bleomycin, Cisplatinum und Vincristin wurde das Größenverhalten der Tumoren vor, während und nach der Therapie dokumentiert. Die Therapie erfolgte an Tag 7 nach Tumorimplantation an 5 Tagen/Woche über 3 Wochen. Es wurde mit folgenden Konzentrationen therapiert: Bleomycin (2,0 mg/kg/Injektion), Cisplatinum (0,2 mg/kg/Injektion) und Vincristin (10 µg/kg/Injektion). Als Vergleich wurde den Tumoren der Therapietiere das Größenverhalten der Tumoren von mit physiologischer Kochsalzlösung i.t. injizierten Kontrolltieren gegenübergestellt.

Der durchschnittliche Tumordurchmesser der mit Bleomycin

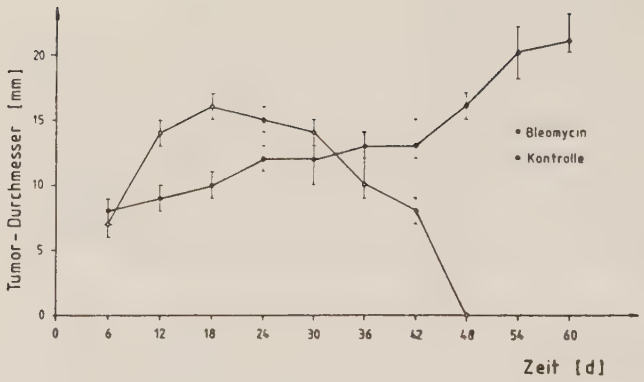

Abb. 1: Entwicklung des Primärtumor-Durchmessers nach intradermaler Transplantation von Linie 10 Tumorzellen in Stamm 2 Meerschweine und intratumoraler Behandlung mit Bleomycin und Kochsalzlösung (Kontrolle).

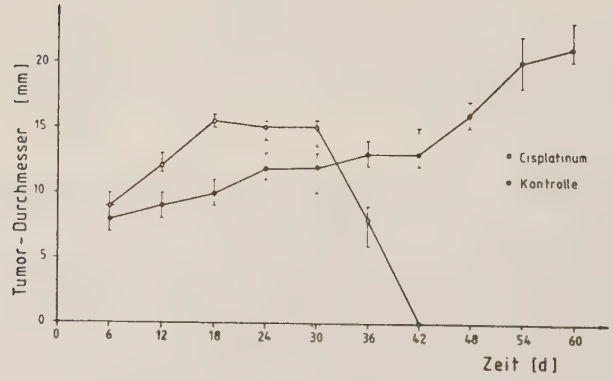

Abb. 2: Entwicklung des Primärtumor-Durchmessers nach intradermaler Transplantation von Linie 10 Tumorzellen in Stamm 2 Meerschweine und intratumoraler Behandlung mit Cisplatinum und Kochsalzlösung (Kontrolle).

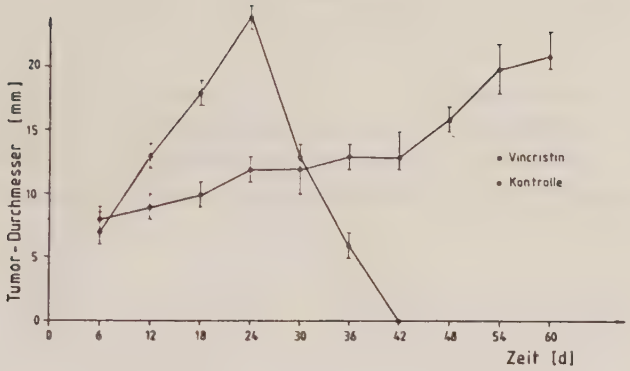

Abb. 3: Entwicklung des Primärtumor-Durchmessers nach intradermaler Transplantation von Linie 10 Tumorzellen in Stamm 2 Meerschweine und intratumoraler Behandlung mit Vincristin und Kochsalzlösung (Kontrolle).

(2,0 mg/kg/Injektion) behandelten Tiere betrug bei Therapiebeginn 7 mm, stieg dann über 14 mm an Tag 12 auf ein Maximum von 16 mm an Tag 18 an. Bei Therapieende, an Tag 24, betrug der Durchmesser 15 mm und fiel dann langsam ab. An Tag 48 waren alle Tumoren abgeheilt.

Die mit Cisplatinum (0,2 mg/kg/Injektion) behandelten Tiere wiesen bei Therapiebeginn einen Tumordurchmesser von durchschnittlich 9 mm auf. Das Maximum des Tumordurchmessers lag bei 15,5 mm an Tag 18 und fiel bis Tag 30 mit 15 mm nur unwesentlich ab. In den folgenden 12 Tagen bis zu Tag 42 kam es zu einer schnellen Abheilung aller Tumoren.

Mit Vincristin (10 µg/kg/Injektion) behandelte Tiere zeigten nach einem Tumordurchmesser von durchschnittlich 7 mm bei Therapiebeginn ein rasches gleichförmiges Tumorwachstum bis zu einem Maximum von 24 mm an Tag 24. Danach kam es zu einer ebenso raschen Tumorverringerung bis zur vollständigen Abheilung an Tag 42. Der Tumor war bis zur Abheilung von einer

anfangs starken, später dann abnehmenden Induration des umliegenden Gewebes begleitet.

Der Tumordurchmesser der Kontrolltiere betrug bei Therapiebeginn durchschnittlich 7 mm. Der Anstieg des Tumordurchmessers der Kontrolltiere erfolgte langsamer als der der therapierten Tiere. An Tag 60 lag der Tumordurchmesser der Kontrolltiere bei 21 mm.

5.3. Lymphknotengröße

Das Verhalten der Lymphknotengröße (ln. axillaris) wurde am Beispiel der schon bei den Tumoren genannten Medikamente Bleomycin (2,0 mg/kg/Injektion), Cisplatinum (0,2 mg/kg/Injektion) und Vincristin (10 µg/kg/Injektion) dargestellt (s. Abb. 4, 5, 6).

Die Therapiedurchführung und -dauer waren identisch.

Beim Bleomycin betrug der Lymphknoten-Durchmesser bei Therapiebeginn durchschnittlich 1,5 mm. Er stieg dann über 7 mm an Tag 18 und 9 mm an Tag 24 auf ein Maximum von 10 mm an Tag 30 an. Es erfolgte dann bis zum Tag 48 ein Abfall auf 1,5 mm und an Tag 60 betrug der Lymphknoten-Durchmesser 1 mm.

Der Lymphknoten-Durchmesser der mit Cisplatinum behandelten Tiere betrug bei Therapiebeginn durchschnittlich 1,5 mm. Bis zum Tag 30 erfolgte ein kontinuierlicher Anstieg bis zum Maximum von 5 mm. Danach erfolgte ein Abfall des Lymphknoten-Durchmessers, der an Tag 36 2 mm betrug und bis Tag 60 relativ konstant blieb.

Beim Vincristin wurde bei Therapiebeginn ebenfalls ein durchschnittlicher Lymphknoten-Durchmesser von 1,5 mm gemessen. Ein Maximum von 4 mm Durchmesser wurde an Tag 18 erreicht und auch noch bis zum Tag 30 gemessen. Dann er-

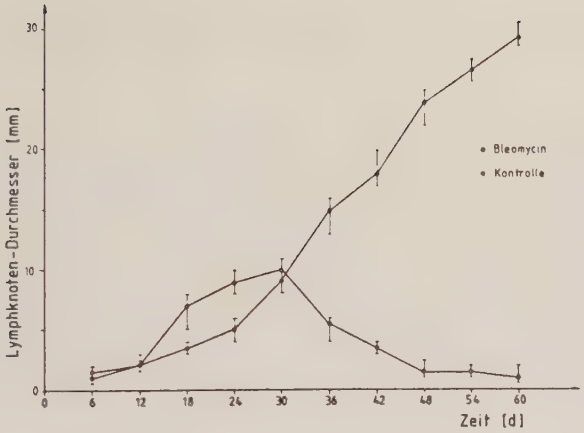

Abb. 4: Entwicklung des Lymphknoten-Durchmessers nach intradermaler Transplantation von Linie 10 Tumorzellen in Stamm 2 Meerschweine und intratumoraler Behandlung mit Bleomycin und Kochsalzlösung (Kontrolle).

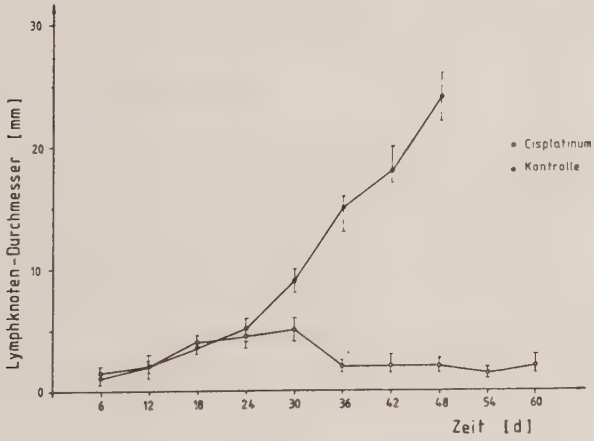

Abb. 5: Entwicklung des Lymphknoten-Durchmessers nach intradermaler Transplantation von Linie 10 Tumorzellen in Stamm 2 Meerschweine und intratumoraler Behandlung mit Cisplatinum und Kochsalzlösung (Kontrolle).

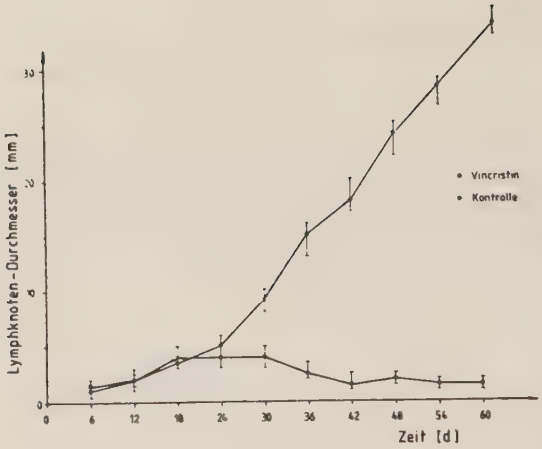

Abb. 6: Entwicklung des Lymphknoten-Durchmessers nach intradermaler Transplantation von Linie 10 Tumorzellen in Stamm 2 Meerschweine und intratumoraler Behandlung mit Vincristin und Kochsalzlösung (Kontrolle).

folgte ein Abfall des Durchmessers auf 1,5 mm an Tag 42. Der gleiche Wert wurde auch an Tag 60 gemessen.

Bei der Kontrollgruppe lag der Lymphknoten-Durchmesser an Tag 6 bei durchschnittlich 1 mm. Erst an Tag 24 lag der Lymphknoten-Durchmesser der Kontrollgruppe mit einem Wert von 5 mm über den Werten der Bleomycin- und Cisplatinumgruppe. Die Werte der Vincristingruppe wurden erst an Tag 32 mit 11 mm Lymphknoten-Durchmesser überschritten. Ab Tag 24 erfolgte ein rascher Anstieg der Durchmesserwerte für die Kontrollgruppe von durchschnittlich 5 mm an Tag 24 auf 24 mm an Tag 48. An Tag 60 lagen die Lymphknoten-Durchmesserwerte bei 65 mm.

5.4. Gewichtsverhalten der Meerschweine vor, während und nach Chemotherapie

Gemessen wurden die gleichen Therapiegruppen wie auch schon bei der Tumor- und Lymphknotenmessung. Die Messtage waren ebenfalls identisch. Die mit Bleomycin (2,0 mg/kg/Injektion) behandelten Tiere hatten bei Therapiebeginn ein Gewicht von 390 g - 460 g. An Tag 24, bei Therapieende, hatten 3 Tiere unter der Therapie zugenommen (30 g, 30 g, 20 g), während 2 Tiere Gewicht verloren (30 g bzw. 10 g). An Tag 42 hatten die Tiere 18 Tage nach Therapieende, also einem therapielosen Zeitraum, der der Therapiedauer entsprach, durchschnittlich 60 g zugenommen. Auffällig war ein Gewichtsverlust von 3 Tieren zwischen Tag 42 und 48, bei denen es zu Gewichtsverlusten von durchschnittlich 120 g kam. An Tag 60 wogen alle Tiere zwischen 450 g und 500 g.

Die mit Cisplatinum behandelten Tiere wiesen an Tag 6, einen Tag vor Therapiebeginn, ein durchschnittliches Gewicht von 480 g auf. Bei Therapieende hatten vier Tiere unter der Therapie zugenommen (zwischen 20 und 50 g), während ein Tier 10 g Gewicht verlor. An Tag 60 erreichten die Tiere ein Gewicht von durchschnittlich 610 g.

Mit Vincristin (10 µg/kg/Injektion) behandelte Tiere hatten bei Therapiebeginn ein Gewicht zwischen 470 g und 550 g. Ein Tier verstarb an Tag 13 nach einem Gewichtsverlust von 120 g. Die übrigen 4 Tiere hatten bei Therapieende unter der Therapie durchschnittlich 30 g zugenommen. An Tag 60 wurde ein Durchschnittsgewicht von 600 g erreicht. Die Tiere der Kontrollgruppe wiesen an Tag 6, dem 1. Messtermin, ein Durchschnittsgewicht von 510 g auf. Bis zum Tag 24, dem Therapieende der behandelten Tiere, ergaben sich Gewichtszunahmen bei allen Tieren von durchschnittlich 75 g. Von Tag 30 konnte eine rasche Gewichtszunahme aller Tiere beobachtet werden, die zu einem Durchschnittsgewicht von 760 g an Tag 60 führte. Ein Tier verstarb an Tag 55 am Tumor.

Tabelle 9:
Gewichtsverhalten der Meerschweine vor und nach der Therapie mit Bleomycin (2,0 mg/kg)

		Therapiedauer: 5x/Woche über 3 Wochen				
Bleomycin (2,0 mg/kg)		1	2	3	4	5
Therapiebeginn:	Tag 6	390 g	440 g	460 g	460 g	430 g
	Tag 12	400 g	460 g	455 g	470 g	420 g
	Tag 18	420 g	470 g	460 g	470 g	460 g
Therapieende:	Tag 24	420 g	470 g	430 g	450 g	450 g
	Tag 30	440 g	500 g	440 g	470 g	450 g
	Tag 36	470 g	520 g	470 g	500 g	500 g
	Tag 42	500 g	540 g	450 g	500 g	520 g
	Tag 48	500 g	530 g	370 g	360 g	370 g
	Tag 54	500 g	540 g	420 g	430 g	410 g
	Tag 60	500 g	500 g	460 g	470 g	450 g

Tabelle 10:
Gewichtsverhalten der Meerschweine vor und nach der Therapie mit Cisplatinum (0,2 mg/kg)

		Therapiedauer: 5x/Woche über 3 Wochen				
Cisplatinum (0,2 mg/kg)		1	2	3	4	5
Therapiebeginn:	Tag 6	500 g	490 g	440 g	480 g	510 g
	Tag 12	510 g	500 g	450 g	510 g	550 g
	Tag 18	530 g	520 g	450 g	520 g	570 g
Therapieende:	Tag 24	520 g	530 g	430 g	510 g	560 g
	Tag 30	530 g	560 g	440 g	530 g	560 g
	Tag 36	520 g	590 g	470 g	540 g	570 g
	Tag 42	560 g	620 g	480 g	560 g	620 g
	Tag 48	570 g	660 g	490 g	570 g	630 g
	Tag 54	600 g	610 g	460 g	570 g	650 g
	Tag 60	630 g	660 g	500 g	600 g	670 g

Tabelle 11:
Gewichtsverhalten der Meerschweine vor und nach der Therapie mit Vincristin (10 µg/kg)

		Therapiedauer: 5x/Woche über 3 Wochen				
Vincristin (10 µg/kg)		1	2	3	4	5
Therapiebeginn:	Tag 6	470 g	530 g	550 g	500 g	520 g
	Tag 12	510 g	550 g	430 g	530 g	530 g
	Tag 18	530 g	540 g	+	540 g	540 g
Therapieende:	Tag 24	520 g	540 g		550 g	540 g
	Tag 30	580 g	560 g		560 g	570 g
	Tag 36	580 g	550 g		570 g	580 g
	Tag 42	550 g	560 g		580 g	580 g
	Tag 48	600 g	560 g		580 g	600 g
	Tag 54	600 g	570 g		600 g	600 g
	Tag 60	650 g	580 g		590 g	600 g

Tabelle 12:
Gewichtsverhalten der Meerschweine der Kontrollgruppe

Kontrolle	1	2	3	4	5
Tag 6	550 g	520 g	450 g	480 g	560 g
Tag 12	600 g	580 g	470 g	550 g	610 g
Tag 18	620 g	560 g	510 g	530 g	620 g
Tag 24	630 g	580 g	500 g	580 g	640 g
Tag 30	650 g	600 g	510 g	590 g	650 g
Tag 36	610 g	600 g	500 g	600 g	660 g
Tag 42	650 g	620 g	580 g	670 g	670 g
Tag 48	740 g	650 g	660 g	600 g	680 g
Tag 54	760 g	750 g	720 g	630 g	670 g
Tag 60	830 g	810 g	+	650 g	760 g

6. DISKUSSION

Chemotherapeutische Medikamente zur Behandlung maligner Erkrankungen schädigen beispielsweise durch ihren inhibierenden Einfluß auf die DNA-Synthese nicht nur Tumorzellen, sondern auch normale, vorzugsweise schnell proliferierende, Zellpopulationen des Tumorträgers. Cytostatische Wirkungen an Haemopoese- und Schleimhautzellen limitieren häufig den Einsatz bzw. die Dosishöhe von Chemotherapeutika. Um diese unerwünschten Nebenwirkungen möglichst gering zu halten, andererseits aber hohe Wirkstoffkonzentrationen im Tumor zu erreichen, wurden in letzter Zeit verschiedene Applikationsformen, wie zum Beispiel die intraarterielle Perfusion oder die intratumorale Injektion, untersucht. In der vorliegenden Arbeit sollte an einem syngenen Meerschweinmodell mit einem chemisch induzierten Tumor die Wirksamkeit der intratumoralen Chemotherapie untersucht und ihre Ergebnisse mit der intravenösen systemischen Therapie verglichen werden. Neben der Art der Injektion, i.t.- oder i.v.-Injektion, erwiesen sich für unsere Therapieexperimente folgende weitere Parameter als wesentlich: Mehrfach- oder Einmalinjektion, Zytostatikadosis und das Tumoralter bei Therapiebeginn.

Die Therapieergebnisse der Experimente 1 - 6 zeigen, daß es mit den verwendeten Zytostatika Bleomycin, Cisplatinum, Vincristin, 5 FU, Mitomycin C, Actinomycin D und BCNU möglich ist, Meerschweine durch intratumorale Chemotherapie von einem intradermal wachsenden Tumor der Linie 10 zu heilen. Die Frage nach dem Wirkmechanismus der intratumoralen Chemotherapie ist noch nicht geklärt. Eine mögliche Erklärung wäre, daß Chemotherapeutika einen Teil des Tumors zerstören und es so der Immunabwehr ermöglichen, den massenmäßig reduzierten Resttumor zu kontrollieren und zu eliminieren (Bast et al. 1976).

6.1. Mehrmalige intratumorale Chemotherapie

Mit Bleomycin, Cisplatinum und Vincristin wurden umfangreiche Therapieexperimente zur mehrmaligen intratumoralen Chemotherapie durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten an 7 Tage alten, bei Therapiebeginn durchschnittlich 8 mm großen, intradermal wachsenden Linie 10 Tumoren und wurden an 5 Tagen/Woche mit jeweils 2 Tagen Therapiepause über 3 Wochen durchgeführt (Tabellen 1-3). Dabei zeigte sich, daß mit allen drei verwendeten Medikamenten eine kurative intratumorale Chemotherapie im Meerschweinmodell möglich ist. Zusätzlich konnten für alle 3 Medikamente eindeutige Dosis-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden. Mit steigender Konzentration wurde eine zunehmende Zahl von Tieren klinisch geheilt bzw. die Überlebenszeit im Vergleich zu den mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Tieren verlängert. Zum Beispiel konnte mit einer Bleomycinkonzentration von bis zu 1 mg/kg/Injektion (0,25 mg; 0,5 mg; 1,0 mg) kein Tier vom Tumor geheilt werden. Bei einer Konzentration von 1,5 mg/kg/Injektion wurden 2 von 5 Tieren und bei einer Konzentration von 2,0 mg/kg/Injektion bereits 4 von 5 Tieren klinisch geheilt. Mit 2,5 mg/kg/Injektion konnten alle Tiere (5/5) geheilt werden. Für Bleomycintherapie mußte ab einer Konzentration von 3,0 mg/kg/Injektion mit stärkeren Nebenwirkungen gerechnet werden. Bei dieser Konzentration verstarben 2 von 5 Tieren an toxischen Medikamentenwirkungen. Die Therapie mit Vincristin war bereits bei niedrigen Konzentrationen (10 µg, 30 µg) mit toxischen Nebenwirkungen belastet, während bei Cisplatinumtherapie bei keiner der verwendeten Konzentrationen toxische Nebenwirkungen beobachtet wurden. Signifikante Verlängerungen der Überlebenszeit im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe konnten für Bleomycintherapie bei 6 von 7, für Vincristintherapie bei 3 von 6 und bei Cisplatinumtherapie bei allen Therapiegruppen festgestellt werden.

Im 4. Therapieexperiment wurde die Effektivität einer i.t.-Chemotherapie mit 5 FU, Mitomycin C, Actinomycin D, BCNU

und Methotrexat auf intradermal wachsende Linie 10 Tumoren geprüft. Die Therapie erfolgte wie in den Experimenten 1-3 als Mehrfachinjektion. Es zeigte sich, daß von den 5 untersuchten Zytostatica mit Mitomycin C und Actinomycin D 2 Chemotherapeutika als wirksam gegen Linie 10 Tumoren eingestuft werden konnten (Tabelle 4). Unter der Behandlung mit Mitomycin C und Actinomycin D konnte eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit ($2\alpha < 1\ \%$) der Tiere gegenüber der entsprechenden Kontrollgruppe beobachtet werden. Diese Befunde korrelieren mit früheren Untersuchungen am gleichen Meerschweinmodell von Bast et al. (1976), Segerling et al. (1977) und Mc Laughlin et al. (1978) und können diese zum Teil noch erweitern. Auffällig war, daß sich für die Methotrexattherapie kein therapeutischer Effekt nachweisen ließ. Bast et al. (1976) konnten mit einer Methotrexatdosis von 6 mg/kg/Injektion kein Tier (0/5) heilen und auch eine von uns durchgeführte Dosiserhöhung auf 25 mg/kg/Injektion brachte keine Verbesserung des Therapieergebnisses. Trotz systemischer Leukoveringabe verstarben alle 5 Versuchstiere an den toxischen Methotrexat-Nebenwirkungen. Schon bei diesen ersten 4 Therapieexperimenten zur Mehrfachinjektion 7 Tage alter Linie 10 Tumoren zeigte sich, daß die Wahl der Dosierung im Meerschweinmodell problematisch ist. In Vorversuchen (nicht dokumentiert) mußten wir feststellen, daß die Anlehnung an Dosierungen, wie sie in der humanen Onkologie gebräuchlich sind, im Meerschweinmodell zum großen Teil untauglich ist. Vergleichbare Dosierungen waren häufig entweder noch nicht wirksam, oder bereits mit derart hohen toxischen Nebenwirkungen belastet, daß ein Großteil der Versuchstiere verstarb. Die Dosisfindung mußte deshalb häufig willkürlich erfolgen, wodurch die Vergleichbarkeit mit humanen Therapieformen eingeschränkt wird.

6.2. Einmalige intratumorale Chemotherapie

Nachdem die Versuche mit einer mehrmaligen intratumoralen Chemotherapie an 5 Tagen/Woche über 3 Wochen sehr erfolgreich waren, sollte die Wirksamkeit einer einmaligen intratumoralen Chemotherapie untersucht werden. Es wurde mit den Zytostatika Bleomycin, Cisplatinum und Vincristin, jeweils mit 2 verschiedenen Konzentrationen, ein 7 Tage alter, intradermal wachsender Tumor der Linie 10 therapiert. Tabelle 5 stellt die Ergebnisse dar.

Wir konnten mit dieser Form der Therapie keinen kurativen Erfolg erzielen. In keinem Fall wurde eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit der Versuchstiere im Vergleich zur entsprechenden Kontrollgruppe festgestellt. Diesen relativ ungünstig erscheinenden Therapieergebnissen stehen Therapieergebnisse von Bast et al. (1976) und Ohanian et al. (1977) zur einmaligen intratumoralen Chemotherapie gegenüber, die zum Teil sehr gute Heilerfolge aufweisen. Bast et al. (1976) konnten mit einer einmaligen intratumoralen Injektion von 22,5 mg BCNU 3 von 5 Tieren heilen und Ohanian et al. steigerten die BCNU-Konzentration auf 90 mg, dem 60fachen der erfolgreichen Einzelkonzentration bei Mehrfachinjektion, und konnten 4 von 5 Tieren heilen. Ohanian et al. (1977) konnten mit einer Adriamycindosis von 0,8 mg 5 von 5 Versuchstieren durch Einmalinjektion heilen. Um bei einer Einmalinjektion erfolgreich zu sein, das zeigten sowohl die Versuche von Bast und Ohanian als auch in geringerem Maße unsere Ergebnisse, mußte jeweils ein Vielfaches der bei Mehrfachinjektion erfolgreichen Einzeldosis injiziert werden. Bei derart hoher Einzeldosierung treten toxische Nebenwirkungen der Chemotherapeutika jedoch verstärkt in Erscheinung. Als Beispiel kann die Einmalinjektion einer Vincristin-Dosis von 1 mg gelten (Experiment 5), nach der alle Tiere an den toxischen Nebenwirkungen des Medikaments verstarben. An dieser Stelle muß eine weitere, bis heute noch nicht abschließend erforschte, Problematik bei der intratumoralen Chemotherapie diskutiert werden. Neben der zytostatischen Komponente der Chemothera-

peutika muß zumindest bei lokaler Therapie auch eine lokaltoxische Wirkung angenommen werden. Pillat (1960) berichtete über Heilungen von Lidkarzinomen durch intratumorale bzw. lokale Injektion mit E 39. Dabei ist zu bemerken, daß diese Erfolge wohl eher auf die lokaltoxische Wirkung der Alkohollösung denn auf die zytostatische Wirkung des verwendeten Präparates E 39 zurückzuführen sind. Die eindeutige Zuordnung von Erfolgen bei der lokalen Chemotherapie auf die Zytostase bzw. lokaltoxische Wirkungen dürfte mit steigender Toxizität der verwendeten Chemotherapeutika immer schwieriger oder unmöglich werden.

Eine abschließende Beurteilung der Einmalinjektion ist auf diesem Hintergrund und unter Berücksichtigung unserer negativen Therapieergebnisse, denen ermutigende Ergebnisse von Bast und Ohanian gegenüberstehen, nicht möglich. Zu bemerken ist allerdings, daß die intratumorale Einmalinjektion von Zytostatika im Vergleich zur mehrmaligen intratumoralen Chemothrapie im klinischen Bereich praktisch keine Rolle spielt.

6.3. Einfluß des Tumoralters

Nachdem in den ersten Therapieexperimenten verschiedene Injektionsarten und Konzentrationen erprobt wurden, sollte in Therapieexperiment 6 und 7 der Einfluß des Tumoralters auf den Heilerfolg untersucht werden. Bei diesen Experimenten wurde wieder mit mehrmaliger intratumoraler Chemotherapie (5 Tage/Woche über 3 Wochen) behandelt. In den bisher diskutierten Experimenten begann die Tumortherapie jeweils am 7. Tag nach der Tumorimplantation. In Experiment 6 wurde an Tag 14 und in Experiment 7 an Tag 21 mit der Therapie begonnen. Die verwendeten Zytostatika waren Bleomycin, Cisplatinum und Vincristin. Bei der Bleomycintherapie an Tag 14 nach Tumorimplantation konnten in unserem Experiment 4 von 5 Tieren geheilt werden. Mit Cisplatinum- und Vincristintherapie konnten bei gleichem Therapiebeginn alle Versuchstiere geheilt werden (Tabelle 6). Das entspricht für diese beiden Gruppen einer signifikanten

Verlängerung der Überlebenszeit ($2\alpha < 1$ %) der Versuchstiere im Vergleich zur mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrollgruppe.

Ohanian et al. (1977) kamen auf Grund von histologischen Befunden zu der Auffassung, daß der ideale Therapiebeginn an Tag 7 nach der Tumorimplantation liegt.

Zu dieser Zeit hat die Tumormetastasierung lediglich den peripheren Sinus des drainierenden Lymphknotens erreicht, während an Tag 14 bereits der gesamte drainierende Lymphknoten vom Tumor befallen ist. Dieser histologische Befund korreliert mit überwiegend negativen Therapieergebnissen, die von Ohanian et al. (1977) mit Therapiebeginn an Tag 14 erzielt wurden. Diese Ergebnisse wurden allerdings mit Einmalinjektion erzielt und sind deshalb mit unseren Ergebnissen nur bedingt vergleichbar.

Die guten Heilerfolge, die in unserem Experiment mit einem Therapiebeginn an Tag 14 erzielt werden, zeigen, daß auch ein Therapiebeginn zu dieser Zeit durchaus noch sinnvoll ist. Eine Erklärung für die guten Heilerfolge könnte in der im Vergleich zu einem Therapiebeginn an Tag 7 angewachsenen Tumorgröße liegen, die eine größere Zytostatikummenge speichern kann und bei der unter der Injektion nicht so viel Flüssigkeit durch zu großen Injektionsdruck verloren geht. Außerdem ist der Abtransport des Zytostatikums durch den mit Tumor blockierten drainierenden Lymphknoten verzögert, so daß sich im Tumor selbst aber möglicherweise auch im drainierenden Lymphknoten über längere Zeit hohe Zytostatikumdosen befinden. Da die Tumormetastasierung an Tag 14 den 1. drainierenden Lymphknoten noch nicht überschritten hat, wie die histologischen Untersuchungen von Ohanian (1977) zeigen, scheint eine Heilung der Tiere zu diesem Zeitpunkt nach unseren Therapieergebnissen durchaus noch möglich.

In Tabelle 7 werden die Ergebnisse für eine mehrmalige intratumorale Chemotherapie mit Therapiebeginn an Tag 21 nach Tu-

morimplantation gezeigt. Zu diesem Zeitpunkt konnten wir mit keinem der verwendeten Zytostatika einen kurativen Effekt erzielen. Dieses Therapieergebnis wird verständlich, wenn man bedenkt, daß an Tag 21 die Tumormetastasierung histologisch bereits über den 1. drainierenden Lymphknoten hinaus fortgeschritten ist. Zu diesem Zeitpunkt bereits bestehende Fernmetastasen werden offensichtlich vom Zytostatikum bei lokaler Therapie nicht mehr in ausreichender Dosishöhe erreicht. Für die klinische Anwendung hätte dies zur Folge, daß eine lokale Chemotherapie nur sinnvoll erscheint, solange der Tumor noch streng lokalisiert und nur der 1. drainierende Lymphknoten befallen ist. Die klinische Brauchbarkeit der Methode wäre dadurch stark eingeschränkt, da eine Diagnosestellung zu einem so frühen Zeitpunkt eher die Ausnahme ist. Vorstellbar wäre der Einsatz der lokalen Chemotherapie jedoch bei Hauttumoren, bei denen eine frühe Diagnosestellung häufig eher möglich ist als bei intracorporalen Tumoren. Das Verfahren wäre allerdings der operativen Therapie unter Umständen unterlegen.

6.4. Intravenöse Chemotherapie

Nachdem der Beweis erbracht war, daß eine intratumorale zytostatische Monotherapie mit Bleomycin, Cisplatinum und Vincristin einen bereits metastasierenden Tumor der Linie 10 klinisch heilen kann, galt es, die Wirkung der intravenösen (i.v.) systemischen Therapie dazu vergleichend abzuklären. Tumortragende Tiere wurden i.v. über einen Katheter in der Vena Jugularis mit der Zytostatikum-Dosis behandelt, die bei der i.t.-Therapie zum besten Heilungserfolg und zu keinen letal toxischen Nebenwirkungen geführt hatte. Bei der so in Form einer mehrmaligen Chemotherapie (5 Tage/Woche über 3 Wochen) durchgeführten Behandlung überlebte kein Tier 120 Tage klinisch tumorfrei. Darüber hinaus verstarben zwischen 40 - 100 % der Versuchstiere an toxischen Nebenwirkungen des jeweiligen Zytostatikums. Die durchschnittliche Überlebenszeit der Tiere war entweder ähnlich oder sogar niedriger als für mit physio-

logischer Kochsalzlösung behandelte Kontrolltiere. Bemerkenswert ist, daß nach intratumoraler Injektion derselben Medikamente bei gleicher Dosierung bis auf ein Tier (Vincristintherapie) alle Tiere geheilt wurden. Damit konnten kinetische Untersuchungen von Bier et al. (1979) bestätigt werden, daß bei intratumoraler Chemotherapie geringere Zytostatikakonzentrationen benötigt werden als bei systemischer Applikation. Der therapeutische Effekt war nach i.t. Chemotherapie im Vergleich zur i.v. Behandlung signifikant höher und die systemisch wirksamen toxischen Effekte niedriger.

Diese schlechten Therapieergebnisse nach intravenöser Behandlung werden durch Befunde von Bast et al. (1976) der mit systemischer intraperitonealer Chemotherapie ebenfalls kein Tier heilen konnte, bestätigt. Es zeigt sich also für das Meerschweinmodell, daß bereits mit geringen Zytostatikumdosen durch intratumorale Chemotherapie sehr gute Heilerfolge erzielt werden können, während bei systemischer Therapie mit gleichen Konzentrationen keine Heilung möglich ist. Ähnliche Befunde für eine gute Wirksamkeit lokaler Chemotherapie konnten auch von Firstater et al. (1976) erhoben werden, die nach intratumoraler Zytostatikainjektion in die Prostata von Ratten erheblich stärkere histopathologische Veränderungen des injizierten Gewebes beschrieben als nach systemischer Gabe, während die Nebenwirkungen auf den Gesamtorganismus der Versuchstiere erheblich geringer waren. Dieses Phänomen der geringen Nebenwirkungen bei sehr hohen Reaktivitäten am Injektionsort wurde auch von Pfister (1971) bei der Behandlung von Hauttumoren beobachtet, der deshalb zu einer Reduktion der lokalen Bleomycin-Dosis überging. Ähnliche Befunde liegen auch von Ito und Nomura (1969) und Fettig et al. (1971) für die Behandlung von Cervix- und Vulvakarzinom vor.

6.5. Schlußfolgerung

Aus den vorgelegten experimentaltherapeutischen Befunden schließen wir, daß zumindest für ausgewählte Tumoren eine rationale Basis zur intratumoralen Chemotherapie besteht. Bestärkt wird diese Annahme durch eine Reihe ermutigender klinischer Untersuchungen mit zum Teil sehr guten Ergebnissen, beispielsweise bei der Behandlung von Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich (Bier, persönliche Mitteilung). Pfister (1971) konnte bei der Behandlung von Hauttumoren und Fettig et al. (1971) bei der intratumoralen Chemotherapie von Cervix- und Vulvakarzinomen gute Heilerfolge erzielen.

Der Vaskularisierungsgrad einiger Tumortypen kann ebenfalls eine i.t. Chemotherapie favorisieren, da für schlecht durchblutete Tumoren sicher höhere systemische Zytostatikadosierung erforderlich ist als für Malignome mit einer ausgeprägten Gefäßarchitektur. Es wurde für verschiedene induzierte Mäuse- und Rattentumoren aber auch für autochthone Katzen- und Hundetumoren berichtet, daß nur eine dünne, wenige Millimeter breite Tumorrandzone eine Verbindung zur systemischen Blutzirkulation aufweist, während das übrige Tumorgewebe von der allgemeinen Zirkulation abgeschnitten (Goldacre und Sylven, 1959; Owen, 1960) und somit einer systemischen Therapie nur schlecht zugänglich ist. Bei hochdifferenzierten humanen Plattenepithelkarzonomen im Kopf-Hals-Bereich, deren zentrale Gefäßstruktur ebenfalls stark reduziert ist (Schmidseder und Noma, 1977), sollte daher eine i.t. Zytostatikagabe erwogen werden. Schlecht durchblutete Tumoren sind allerdings in der Onkologie deutlich in der Minderzahl.

Eine Verbesserung der i.t. Chemotherapie durch Verwendung anderer galenischer Zubereitungen der Zytostatika, etwa in Form einer Emulsion, die eine lange Verweildauer der Wirkstoffe am Injektionsort ermöglicht, wäre denkbar.

Es muß jedoch auch darauf hingewiesen werden, daß einige Umstände der vorgelegten Arbeit die Übertragbarkeit und Aus-

sagekraft für eine klinische Anwendung einschränken. Für eine klinische Aussage wären üblicherweise Versuche an einer Vielzahl verschiedener Tumoren erforderlich. Uns stand jedoch beim Meerschweinmodell nur ein Tumor zur Verfügung, der intradermal wächst und somit einer intratumoralen Chemotherapie zugänglich ist.

Die von uns verwendeten Zytostatikadosierungen konnten in einigen Fällen, wie bereits vorher erwähnt, nicht den in der humanen Onkologie gebräuchlichen Dosierungen äquivalent gewählt werden. Diese Umstände fordern eine differenzierte Beurteilung der vorgelegten Ergebnisse. Ebenso erfordert es noch weiterer experimenteller Untersuchungen, um eine bessere Differenzierung zwischen zytostatischer und zytotoxischer Wirkung der Zytostatika zu erreichen. Unsere Therapieexperimente und auch die Untersuchungen von Ohanian (1977) zeigen, daß die intratumorale Chemotherapie, wenn sie nach Tag 14 nach Tumorimplantation erfolgt, wegen der bereits fortgeschrittenen Tumormetastasierung nicht mehr kurativ ist.

Sollte diese Feststellung durch andere tierexperimentelle Untersuchungen bestätigt werden, würde dies eine starke Einschränkung der Anwendbarkeit der intratumoralen Chemotherapie im klinischen Bereich bedeuten. Eine weitere, bisher nicht ausreichend experimentell gesicherte Frage, ist die Möglichkeit, durch den hohen Injektionsdruck bei intratumoraler Therapie Tumorinseln auszuschwemmen und damit eine artefizielle Metastasierung auszulösen.

Unter vorsichtiger Berücksichtigung der vorgenannten, die Anwendbarkeit einschränkenden Fakten, sehen wir zum gegenwärtigen Stand der Forschung folgender Anwendungsmöglichkeiten für die intratumorale Chemotherapie. Voraussetzung für die intratumorale Chemotherapie ist eine möglichst frühzeitige Erkennung - und eine gute Zugänglichkeit der Tumoren, so daß in erster Linie Hauttumoren, Tumoren im Zervix- und Vulvabereich und Tumoren im Kopf-Hals-Bereich in Frage kommen. Hierbei wird es jedoch sicherlich zu einer Konkurrenz mit

operativen Verfahren kommen. Besonders im Kopf-Hals-Bereich sehen wir eine Indikation für die intratumorale Chemotherapie, allerdings häufig nur als palliative Therapie. In diesem Bereich werden häufig lokal weit fortgeschrittene Tumoren beobachtet, die sich wegen operationstechnischer Schwierigkeiten oder durch stark eingeschränkte Operationsfähigkeit des Patienten der Chirurgie entziehen. Hier kann den Patienten durch eine häufig weitgehende Reduzierung der Tumormasse mit intratumoraler Chemotherapie eine große und riskante Operation erspart werden.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Syngene Meerschweine mit einem intradermal wachsenden Linie 10 Tumor wurden mit verschiedenen Zytostatika intratumoral therapiert.

Mit mehrmaliger intratumoraler Chemotherapie (5 Tage/Woche über 3 Wochen) 7 und 14 Tage alter Linie 10 Tumoren konnte ein hoher Prozentsatz der Tiere geheilt werden und eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit ($2\alpha < 1$ %) im Vergleich zu den Kontrollgruppen erreicht werden. Mit mehrmaliger intratumoraler Chemotherapie 21 Tage alter Linie 10 Tumoren konnte kein therapeutischer Erfolg festgestellt werden.

Durch eine einmalige intratumorale Chemotherapie 7 Tage alter Linie 10 Tumoren konnte nur eine geringe Zahl von Meerschweinen geheilt werden.

Mit einer mehrmaligen intravenösen Chemotherapie (5 Tage/Woche über 3 Wochen) 7 Tage alter Linie 10 Tumoren konnte kein Tier geheilt werden und die toxischen Nebenwirkungen der Zytostatika stiegen bei dieser Behandlungsart gegenüber der i.t. Applikation stark an.

Diese Ergebnisse sprechen auf der Basis tierexperimenteller Versuche für eine i.t. Chemotherapie geeigneter Tumoren.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. BAST, R C., SEGERLING, M., OHANIAN, S. H., GREENE, S. L., ZBAR, B., RAPP, H. J., BORSOS, T.:
Regression of established tumors and induction of tumor immunity by intratumor chemotherapy.
J. Natl. Cancer Inst. 56: 829 - 832. 1976

2. BIER, J., BENDERS, P., BITTER, K.:
Ausscheidung und Organverteilung von ^{57}Co-Bleomycin.
Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts-Chir. 3: 151 - 157. 1979

3. DUSTIN, A. P.:
Contribution à l'étude de l'action des poisons casyo-classique sur les tumeurs animals. Action de la colchicine sur le sarcome greffée, type Crocker, de la souris.
Bull. Acad. roy. Méd. Belg. 14: 487 - 491. 1934

4. FARBER, S., DIAMOND, L. K., MERCER, R. D., SYLVESTER, R. F., WOLFF, J. A.:
Temporary remissions in acute leukemia in children produces by folic acid antagonist, 4-aminopteroly-glutamic acid.
New. Engl. J. Med. 238: 787 - 791. 1948

5. FETTIG, O., HILGARTH, M., HILLMANNS, H. G., KALTENBACH, J. F.:
Bleomycin in der Gynäkologie.
Fortschr. Med. 89: 1373 - 1379. 1971

6. FIRSTATER, M., MESHORER, A., IRSICOVITCH, L.:
Intraprostatic injections of various antitumor compounds into rats: Part II. Chronic effects.
Urol. Res. 4 (1): 19 - 22. 1976

7. GLASOWSKI, P.:
Intratumorale Bleomycin-Infiltrationstherapie bei Plattenepitheltumoren im HNO-Bereich.
Laryng. Rhinol. 56: 543 - 545. 1977

8. GOLDACRE, R. J., SYLVEN, B.:
A rapid method for studying tumour blood supply using systemic dyes.
Nature (London) 184: 63 - 65. 1959

9. HUGGINS, C., HODGES, C. V.:
Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate.
Cancer Res. 1: 293 - 297. 1941

10. HUNTINGTON, M. C., DUPRIEST, R. W., FLETCHER, W. S.:
Intraarterial bleomycin therapy in inoperable squamous cell carcinomas.
Cancer 31: 153 - 157. 1973

11. ITO, M., NOMURA, H.:
Experience of clinical trials on bleomycin in the field of gynecology.
Franco-Japanese Research Meeting on Bleomycin, 20. Aug. 1969, Tokyo

12. LITS, F.:
Contribution à l'étude des réactions cellulaires provoguées par la colchicine.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 115: 1421 - 1425. 1934

13. LOESER, A. A.:
Male hormone in treatment of cancer of the breast.
Acta M.J.C.C. 4: 375 - 379. 1939

14. McLAUGHLIN, C. A., CANTRELL, J. L., RIBI, E., GOLDBERG, E. P.:
Intratumor chemoimmunotherapy with mitomycin C and components from mycobacteria in regression of line 10 tumors in guinea pigs.
Cancer Res. 38: 1311 - 1316. 1978

15. NEUMANN, H.-G.:
Entstehung und Behandlung von Tumoren.
Aus: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Bibliographisches Institut, 2. Aufl. 558, 1977

16. OHANIAN, S. H., YARKONI, E. L., HUNTER, J. T., OKUDA, T., SCHLAGER, S. I., RAPP, H. J., BORSOS, T.:
Local chemotherapy of a metastasizing guinea pig tumor.
Cancer Invasion and Metastasis: Biologic Mechanisms and Therapy. Raven Press, New York. 1977

17. OWEN, L. N.:
A rapid method for studying tumor blood supply using lussamine green.
Nature (London) 187: 796 - 796. 1960

18. PALADINE, W., CUNNINGHAM, T. J., SPONZA, R., DONAVAN, M., OLSON, K., HORTON, J.:
Intracavitary bleomycin in the management of malignant effusion
Cancer 38: 1903 - 1908. 1976

19. PFISTER, R.:
Die antibiotische Behandlung maligner epithelialer Tumoren der Haut mit Bleomycin - Erste Erfahrungen.
Fortschr. Med. 89: 583 - 589. 1971

20. PILLAT, A.:
Örtliche Behandlung von Lidkarzonomen mit Zytostatika.
Wiener Med. Wschr. 48: 975 - 978. 1960

21. SAUER, Hansjörg; SCHALHORN, Andreas:
Rationale Grundlagen und Praxis des Citrovorumfaktor (Leucoverin®)-Schutzes nach hochdosierter Methotrexat®-Therapie.
Onkologie 3: 64 - 71 (2/1980)

22. SCHMIDSEDER, R., NOMA, H.:
Die Gefäßarchitektonik des Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle.
Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts-Chir. 1: 4 - 7. 1977

23. SEGERLING, M., OHANIAN, S. H., BORSOS, T.:
Enhancing effect of metabolic inhibitors on the killing of tumor cells by antibody and complement.
Cancer Res. 35: 3195 - 3203. 1975

24. SKIPPER, H. E., SCHABEL, F. M. Jr., WILCOX, W. S.:
Experimental evaluation of potential anti-cancer agents. XIII On the criteria and kinetics associated with "curability" of experimental leukemia.
Cancer Chemother. Rep. 35: 1 - 7. 1964

25. TAKAHASHI, T., MIZUNA, M., FUJITA, J., UEDA, S., NISHIOKA, B., MAJOMA, S.:
Increased concentration of anticancer agents in regional lymph nodes by fat emulsions with special reference to chemotherapy of metastasis.
Gann 64: 345 - 350. 1973

26. TAKETA, C., NAGANO, A., WASHIZU, K., MATSUURA, J., ONO, J., EBIHASA, S.:
Treatment with local injection of bleomycin against recurrent cancer in the head and neck region.
Jap. J. Clin. Oncol. 1: 41 - 45. 1971

27. TATOR, C. H., WASSENAAR, W.:
Intraneoplastic injection of methotrexate for experimental brain-tumor chemotherapy.
J. Neurosurg. 46: 165 - 174. 1977